

**立教大学学術推進特別重点資金（立教 S F R）**  
**プロジェクト研究（重点領域・推進プロジェクト研究）**  
**2015年度研究【経過・成果】報告書**

研究代表者	所属部局・職		氏 名	
	理学部・教授		常盤 広明 印	
研究課題	フォトクロミックバイオプローブの合理的設計と新機能創製			
研究組織	所属研究機関・部局・職		氏 名	
	立教大学・未来分子研究センター・副センター長 立教大学・理学部・准教授 立教大学・理学部・教授 立教大学・理学部・教授 立教大学・理学部・教授 国立感染症研究所・ウイルス3部・部長 広島国際大学・薬学部・教授 広島国際大学・薬学部・准教授 星薬科大学・医薬品化学研究所・教授 静岡県立大学・食品栄養科学・助教 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程		入江 正浩 森本 正和 木下 勉 岡 敏彦 後藤 聡 竹田 誠 池田 潔 大坪 忠宗 津吹 政可 中野 祥吾 稲留 徹 市川 智浩 藤田 侑愛 小林 花房 玲奈 佐藤 伶奈 加瀬 彩和子	
研究期間	2014 年度 ～ 2016 年度			
研究経費 (上段：支出金額) (下段：採択金額)	2014 年度	2015 年度	2016 年度	総計
	14,999,994 円	14,991,698 円	15,000,000 円	29,991,692 円
	15,000,000 円	15,000,000 円	15,000,000 円	45,000,000 円

**研究の概要**（200～300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。）

本プロジェクトは、「フォトクロミック分子材料」と「生命理学的バイオプローブ」とを有機的に融合することにより、「フォトクロミックプローブの合理的設計開発と新機能創成」という統合化新領域の確立を目的とする。従来までのフォトクロミック分子は、各種デバイス材料などさまざま領域で利用されてきたが、その水溶性の低さから生体系への適用には限りがあった。その一方で、近年のバイオプローブを用いたイメージング技術革新には目覚ましいものがあり、基礎生物学的な利用から臨床応用まで幅広く用いられている。そこで本プロジェクトでは、フォトクロミックバイオプローブを開発し、ウイルス、卵細胞などの生体系へ応用する。さらには、超高解像度顕微鏡への応用を目指す。

**キーワード**（研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。）

〔フォトクロミック分子〕 〔バイオプローブ〕 〔多次元化〕

## 研究【経過・成果】の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

本立教 SFR 重点プロジェクトでは、本学を拠点とした AMED-CREST、新学術領域プロジェクト研究、ならびに科研費基盤 (S)、(A) などの多年度に渡る外部大型プロジェクト申請に向けた基盤整備を目的として、近年広領域に渡り発展の目覚ましいバイオイメージングに対して、適用可能な**高性能フォトリソミックバイオプローブ**の創出を目指して、**高精度理論計算**に基づく合理的な設計開発戦略の下、

i) 「蛍光量子収率・光反応量子収率の精密制御」

ii) 「可視光応答性の付与」

iii) 「水溶性・生体認識能の付与」

の各項目について、

合理的設計、戦略立案： 常盤、入江 (学内)、中野 (学外)

光物性計測測定： 入江、森本 (ともに学内)

化学合成： 池田、大坪、津吹 (すべて学外)

生体システムへの適用： 木下、岡、後藤 (学内) および 竹田、中野 (学外)

の各グループ内およびグループ間の領域横断型プロジェクト研究を昨年度までの研究を元に発展、展開した。研究組織の基盤構築に重点をおいた初年度は、外部大型プロジェクトが採択とならなかった。そこで実行 2 年目においては、設計および応用に関して抜本的な改革を行った。これまでの化学、生命科学に加えて、情報科学を基盤としたバイオインフォマティクスからのアプローチを取り入れ、より複合的な視点からの展開を図った。本申請プロジェクトの大きな特徴である **Wet-Dry** 融合のアプローチにおいて、ビックデータを有効活用できるバイオインフォマティクス技術の導入は、化合物の構造を元にした設計とは一線を画し、従来までの実験的知見の集積されたビックデータから、解決すべき問題の「コア」となる事象を効率的に取り出すことができるため、従来までの試行錯誤型アプローチによる実験のロスを最小限に抑えることが可能となる。しかしながら、そのようなアプローチを用いた光デバイスや光応答分子への適用例はほとんどないため、アウトプット (化合物の開発) をきちんと提示することができれば、本プロジェクトの大きな特徴となりうることを期待される。今年度はこれまでの低分子を中心とした光応答性分子の合理的設計、化学合成技術を、オリゴペプチドや抗体、デンドリマーなどの中大型分子へ拡張し、種々の生体系に適用することを目指した。実際に、臨床応用可能なワクチンおよび化学療法剤が存在せず、構造基盤型創薬手法の適用が困難なウイルスに対して、特異的結合できる新規化合物の合理的設計、ヘテロ分子系から形成される脂質細胞膜の理論モデルの構築、受容体にモジュレータとして結合する化合物と **FRET** を起こす蛍光性共役因子の開発などを行った。

その一方で最近、日本における外部大型プロジェクトに対する環境に大きな変革があった。アメリカの **NIH** を参考にして、今までの縦割り型システムとは異なる形で、厚生省、経済産業省、文部科学省を統合、横断する新たな組織として **AMED** が立ち上げられ、この **AMED** の下で、新規な形で種々の大型プロジェクトが募集、遂行されるようになった。**AMED** の管理するプロジェクト研究の目的は、従来までの厚生科研費や文部科学省の科研費とは異なり、専門的な論文や学術的発表を最終的なアウトプットとするのではなく、実際の「創薬」を達成することにある。つまり貴重な税金を財源とする大型プロジェクトは、研究者の興味を満たすだけに利用されるのではなく、社会に還元される「創薬」という明確なアウトプットが求められることとなった。このことは、本プロジェクトにとって大きな追い風となり、本研究の対象のひとつである脂肪酸の代謝に関連する細胞膜タンパク質の理論解析を基盤に形成されたグループ研究を、筑波大、金沢大、群馬大の各医学部とともに、**AMED-CREST** (グループ型) に申請し、採択となった。さらに、**AMED** プロジェクトとしては、千葉大学薬学部とともに、がん糖鎖プロジェクトへも申請中である。また、新規抗ウイルス薬の開発を目指した科研費基盤 (A) は、残念ながら採択には至らなかったが、最終年度内には、新規抗体開発を含むプロジェクトへ拡張し、感染症薬治療開発について、**AMED** へ申請予定である。

今年度は 5 月に合理的創薬の先駆者として、世界初の抗インフルエンザ薬の開発に成功した **Prof. Mark von Itzstein** を招聘して、本学において特別講演会を開催した。現在まで、抗ウイルス薬のない標的に対する合理的阻害剤開発が、本学を中心に強力に推進され、オーストラリアとの間の共同研究も活発化した。次年度には、大学院学生の短期滞在などの交流も予定している。また、本プロジェクトの下、開発が進んでいる水溶性フォトリソミック分子については、超高解像度顕微鏡の開発元であるドイツの共同研究先へも化合物の供給が開始され、実用化に向けて着実にステップアップしている。大学院生をはじめとする若手研究者の国際学会での発表の支援については、初年度に引き続き今年度も多数行い、スロバキア、インドからの研究者を招聘し、また、クロアチア、アメリカなどでの国際学会で発表などを行った。

## 研究【経過・成果】の概要 つづき

プロジェクトの初年度においては、迅速な組織基盤の構築の点から、物性計測や生体系への応用に先立って、物質供給を担う化学合成の分野を中心とした研究を展開したが、本年度は、より Wet-Dry 研究間の連携を深めて、本格的に外部大型プロジェクト申請に直結するように、各種生体系への応用、ならびに究極まで高めた複合的光物性を有する光応答性分子の設計開発に対して、広く研究展開した。まず、先行した薬学会でのシンポジウムの内容を元に、Wet-Dry 研究の具体的な指針については、総説(誌上シンポジウム)として取りまとめた。その中の筑波大島野の総説「脂質の質に視点を置いた臓器障害治療戦略と創薬」を発展させて、AMED-CREST に申請した「脂肪酸の鎖長を基軸とした疾患の制御機構と医療展開に向けた基盤構築」が、5 年 4 カ月に渡る長期グループ型プロジェクトとして、採択に至った。その AMED プロジェクトにおいて、実際の製薬会社のリポドミクス研究グループ、および筑波大、金沢大、群馬大のそれぞれの臨床医学のグループに加えて、本学から唯一、理学系のグループとして参画できたのは、まさに本プロジェクト研究の遂行において、「第一原理計算に基づく脂肪酸分子種の多様性と細胞機能の *in silico* 解析」の Wet-Dry 融合により、本プロジェクト研究が推進する「見える化」が、臨床研究においても重要な位置を担っていることが示されたためである。従来までの大型研究プロジェクトとは異なり、「創薬」という明確な目的をもつ(AMED などの)研究をしっかりと遂行するためには、薬物候補化合物の分子論的作用機序を明らかにすることが必要不可欠である。そこで、化学療法剤がないヒトパラインフルエンザや各種ウイルスターゲットの新規阻害剤、さらには、糖尿病、高脂血症、高血圧などの標的核内受容体のアナログなどの合理的設計開発やその生体内での機能について、理論解析を実行した。それらの成果については、IF 高い専門誌である *J.Med.Chem.* や *Sci.Rep.* などに公表した。現在、合理的に設計され、高活性が予想される薬物候補化合物を、実際にフィードバックして、化学合成に取り組んでいる。しかしながら、このような低分子化合物の設計、合成、活性測定というサイクルは必ずしも効率が悪く、上市できる薬物に到達する確立は残念ながら極めて低い。そこで本プロジェクトでは、アプローチを大きく変えて、このような低分子化合物の設計のみではなく、アミノ酸のオリゴマー(オリゴペプチド)の“配列”をバイオインフォマティクス手法により設計開発する方法を導入した。本年度から研究分担者として参画した中野によって、*Sci.Rep.* に公表された新規プログラム INTMSAlign は、従来までの構造のみを基盤とした研究に対して、長年の実験により得られた解析データ群であるビックデータから、効率的に「コア」事象を抽出できるため、構造未知の標的にも応用が可能である。本プロジェクトにおける合理的設計を担っていた高精度第一原理計算と有機的に結合することで、生体内での分子の作用箇所が分からない場合でも、その作用箇所の推定、特定を行うことができる。実際に、4 つある亜型のうち 1 つしか実験構造が決定されていない、ヒトパラインフルエンザについて、すべての亜型の配列比較から、各ウイルスにおける変異しやすい場所を特定し、すべての亜型に有効であり化学耐性を生みにくい新規化合物の設計に成功した。また、高血圧、高脂血症などの生活習慣病の標的として、薬物開発上最も重要とされている GPCR 受容体の内、脂肪酸受容体(FFAR)の GPR40 および GPR120 における脂肪酸基質特異性の起源を明らかにすることができ、食品由来の不飽和脂肪酸混合物の機能性食品としての有効利用の可能性を示すことができた。

さらに、ジアリールエテン分子に対しては、これまでの光応答型分子開発という観点に加えて、光スイッチ反応の分子論的機構や光励起状態に対する解析により、分担研究者の森本の申請が、新学術領域研究「高次複合光応答分子システムの開拓と学理の構築」における A3 班の公募課題「フォトクロミズムを用いた複合応答蛍光スイッチング分子システムの創出」として採択に至っている。今後、フォトクロミズムが生み出す複合現象の分子論的理解が進むことで、生体系への応用範囲が広がることが期待される。

また、Wet サイドからの生体系の生化学的解析研究も大いに進み、後藤らによって、体内の免疫力は糖によって調節されることが分かり、免疫反応の新しいスイッチングの仕組みが分子論的に解明された。この成果は PNAS(2015)に発表され、プレス発表もなされた。また、Dry サイドからの研究としても、3D プリンタ造形を用いた新しい創薬手法の開発に対する発表は、昨年度に引き続き、薬学会での報道向け特別発表に 2 年連続で選出され、その手法による新規薬物の開発に期待が高まっている。

そのような中、特に本プロジェクトメンバーである大学院生の発表が、ウイルス学会若手の会において、審査の結果、発表助成を獲得し、また、日本薬学会関東支部会では優秀発表賞を受賞したことは、本プロジェクトの若手研究者育成が功を奏した好例といえる。

以上、3 カ年の本プロジェクトにおいて、各グループごとの学術的な成果は順調に挙げられている。しかしながら、最大の課題である本学を中心とする新学術領域や科研費基盤(S)もしくは(A)といった大型申請の採択には、至っていない。そこで、最終年度内には、少なくともそれらの申請の柱となる成果を早い段階で創生できるようにしたい。少なくとも前臨床試験に到達する薬物の開発か、もしくは申請当初に予定していた薬物を含む複合体の立体構造解析、すなわち、疾病標的タンパク質の共結晶解析の成功、さらには標的ウイルスに特異的に結合する抗体の合理的設計を達成して、本プロジェクトを基盤とした外部大型プロジェクト申請への道を開きたい。

※ この(様式 2)に記入の、経過・成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 縦型横書き 1 枚・自由様式)を添付すること。

**研究発表** (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④ その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

#### ① 専門論文

- 1) YAMAMOTO-HINO, M., Muraoka, M., Kondo, S., Ueda, R., Okano, H. and GOTO, S., "Dynamic regulation of innate immune responses in Drosophila by Senju-mediated glycosylation" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112** (18), 5809-5814 (2015).
- 2) T. Sumi, T. Kaburagi, M. Morimoto, K. Une, H. Sotome, S. Ito, H. Miyasaka, M. Irie, "Fluorescent photochromic diarylethene that turns on with visible light" *Org. Lett.*, **17**, 4802-4805 (2015).
- 3) Kimura H., Saitoh M., Kobayashi M., Ishii H., Saraya T., Kurai D., Tsukagoshi H., Shirabe K., Nishina A., Kozawa K., Kuroda M., Takeuchi F., Sekizuka T., Minakami H., Ryo A., Takeda M., "Molecular evolution of haemagglutinin (H) gene in measles virus" *Sci. Rep.* **5**, 11648 (2015).
- 4) Yusuke Watarai, Michiyasu Ishizawa, Teikichi Ikura, Flavia C M Zacconi, Shigeru Uno, Nobutoshi Ito, Antonio Mourino, Hiroaki Tokiwa, Makoto Makishima, Sachiko Yamada, "Synthesis, Biological Activities and X-ray Crystal Structural Analysis of 25-Hydroxy-25(or 26)-adamantyl-17-[20(22),23-diynyl]-21-norvitamin D Compounds", *J. Med. Chem.*, **58** (24), 9510-9521 (DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00792) (2015).
- 5) Shogo Nakano, Seiji Okazaki, Erika Ishitsubo, Nobuhiro Kawahara, Hidenobu Komeda, Hiroaki Tokiwa, and Yasuhisa Asano, "Structural and computational analysis of peptide recognition mechanism of class-C type penicillin binding protein, alkaline D-peptidase from *Bacillus cereus* DF4-B", *Sci. Rep.* **5**, Article number: 13836 (DOI: 10.1038/srep13836) (2015).
- 6) Hiroaki Tokiwa, "Possibility of New Medicinal Chemistry Based on "Wet-Dry" Interfaced Pharmaceutical Category", *Yakugaku Zasshi*, **135**(9) 1001-1002 (DOI: 10.1248/yakushi.15-00175-F) (2015). など合計 38 報

#### ③ シンポジウム、招待講演など

- 1) M. Morimoto, "Making and breaking bonds with light in crystals: diarylethene crystals that convert light into mechanical work" Gordon Research Conference "Artificial Molecular Switches and Motors", Massachusetts, USA, June 7-12, 2015.
- 2) 常盤広明 「CMD®先端事例講義及び特別講演：先端研究事例 II」 コンピューショナル・マテリアルズ・デザイン (CMD®) ワークショップ、大阪、2016.3.3
- 3) 竹田誠 「インフルエンザウイルス生体内活性化における HA 糖鎖と宿主プロテアーゼ TMPRSS2 の役割」、第 9 回 CBI 学会 FMO 研究会、2015.5.13
- 4) 竹田誠 「国内、海外における風疹ウイルスの分子疫学の現状」、第 28 回公衆衛生情報研究協議会、2015.1.29
- 5) Irie, M. "Diarylethene crystals that convert light into mechanical work: An approach to molecular machinery" International Workshop for Photo- and Electro-Molecular Machines, Toulouse, France, October 6-7, 2015.

など計 8 件

#### ④ その他

神戸で行われた日本薬学会第 135 回年会での当研究室の報道機関向けハイライト講演が「分子シミュレーションで抗 Dengue ウイルス薬、リード化合物へ到達！」として、日経バイオテク Online に紹介されました。

#### 特許：

- 1) 米国特許 14/002,50・山田幸子、槇島誠、常盤広明、工藤健、渡會友祐子、前川和樹、Antonio Mourino・パーシャルアゴニスト活性を持つ新規ビタミン D 受容体モジュレータ・2015 年 4 月 28 日許可通知受領

#### 学会発表：

- 1) "Rational development and biological application of water-soluble fluorescent photochromic diarylethenes which have sugar substituents", Tokiwa, H.; Okazaki, S.; Ootsubo, T.; Ikeda, K.; Morimoto, M.; Kinoshita, T. and Irie, M., 23rd International Symposium on Glycoconjugates (GLYCO23), September 15-20, 2015, Split, Croatia.
- 2) "Theoretical study of several dipeptidyl peptidase IV inhibitors by the first-principles calculation and molecular dynamics simulation", Okazaki, S.; Ishitsubo, E.; Nakano, Y.; Shimano, H. and Tokiwa, H. 24th American Peptide Symposium (APS2015), June 20-25, 2015, Orland, FL, USA.

など国際会議 10 件、国内学会 104 件